

**LAPISAN MUKOSA MAGNUM
DARI ANAK PUYUH (*Coturnix coturnix japonica*) YANG
DISUNTIK DENGAN MIKOTOKSIN YANG DIDUGA
BERSIFAT ESTROGENIK**

Istriyati¹

INTISARI

Istriyati. 2003. Lapisan Mukosa Magnum dari Anak Puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) yang Disuntik dengan Mikotoksin yang Diduga Bersifat Estrogenik. Biologi 3 (1) : 55 - 63.

Pertumbuhan dan perkembangan saluran telur anak unggas dapat dirangsang dengan pemberian estrogen dari luar. Magnum adalah bagian dari saluran telur unggas yang menghasilkan putih telur, yang disekresikan oleh kelenjar tubuler dalam lapisan mukosanya. Pertumbuhan saluran telur ditunjukkan dengan berat basahnya yang meningkat atau perkembangan kelenjar tubuler yang mencolok dalam lapisan mukosanya. Zearalenon (ZEN) adalah mikotoksin yang diduga mempunyai sifat estrogenik. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mempelajari estrogenisitas ZEN dan perkembangan kelenjar tubuler apabila dosis ZEN dinaikkan menjadi 25 mg/kg bb.

Lima puluh ekor anak puyuh betina umur 7 hari, disuntik secara subkutan dengan ZEN atau etinil estradiol (EE₂) yang dilarutkan dalam minyak sesame selama 5 hari berturut-turut. ZEN atau EE₂ diberikan masing-masing dengan dosis 25 mg/kg bb; 0,025 atau 0,05 mg/kg bb. Sisa hewan lainnya digunakan untuk kontrol. Pada satu hari setelah suntikan terakhir hewan ditimbang berat badannya, selanjutnya dibunuh, saluran telur diambil, ditimbang berat basahnya. Bagian tengah magnum diambil, diambil untuk proses pengamatan histologi. Perkembangan kelenjar tubuler diamati dengan mikroskop cahaya (MC).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kenaikan dosis ZEN menjadi 25 mg/kg bb menyebabkan pertumbuhan saluran telur yang mencolok secara nyata, dan perkembangan kelenjar tubuler menjadi fungsional. Dapat disimpulkan bahwa zearalenon pada anak puyuh, dalam dosis ini, potensi estrogenisitasnya sangat tinggi.

Kata kunci: lapisan mukosa, magnum, puyuh, mikotoksin, estrogenik.

ABSTRACT

Istriyati. 2003. Magnum Mucous Layer of Young Quails (*Coturnix coturnix japonica*) after Injection with Estrogenic Mycotoxin. Biologi 3 (1) : 55 - 63.

¹ Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

The growth and development of young poultry oviduct can be stimulated by exogenous estrogen. Magnum, a part of poultry oviduct, produces egg albumen, secreted by tubular gland cells in the mucous layer. The growth of oviduct is shown by the increasing of fresh weight, which is caused by the water retention or the dramatic development of the tubular gland cells in the mucous layer. Zearalenone (ZEN) a mycotoxin which is suspected as an estrogenic agent used in this experiment. The main purpose of this research are to study the estrogenicity of ZEN and the effect of high dose of ZEN (25 mg/kg bw) on the development of tubular gland cells.

Fifty female young quails of seven days old were injected subcutaneously with zearalenone or ethynil estradiol (EE2) dissolved in sesame oil for 5 days continuously. The dose of ZEN or EE2 which were given were of 25 mg/kg bw or 0,025; 0,05 mg/kg bw, respectively. The remaining was used as controls. Animals were killed on the first day after the last injection. The whole oviducts were weighted, the middle part of magnum was taken, and processed for histological observations. The development of tubular gland cells was observed by light microscope (LM).

Result of this study indicated that zearalenone increases the fresh weight of oviduct significantly, and stimulates the development of tubular gland cells to be functional. It is concluded that, estrogenicity of ZEN on quails' oviduct is very high.

Keywords: mucous layer, magnum, quails, mycotoxin, estrogenic

PENDAHULUAN

Menurut Istriyati dkk. (1998), pada penelitian yang telah dilakukan dengan mikroskop cahaya (MC), tingkat perkembangan kelenjar tubuler pada lapisan mukosa magnum anak puyuh ditetapkan sebagai perkembangan awal kelenjar, perkembangan lanjut I, perkembangan lanjut II dan perkembangan kelenjar sempurna (fungsional). Pada anak puyuh yang disuntik dengan ZEN dosis 20 mg/kg bb perkembangan kelenjar tubuler di dalam lapisan mukosa saluran telur belum mencapai fungsional. Kelenjar tubuler hanya mencapai tingkat perkembangan lanjut I. Pada penelitian yang dilakukan ini ZEN ditingkatkan dosisnya menjadi 25 mg/kg bb. Hal ini penting dan perlu diteliti untuk mencari

memecahkan masalah apakah dengan peningkatan dosis 25 mg/kg bb ini, perkembangan kelenjar tubuler dapat mencapai fungsional sehingga dengan demikian mekanisme estrogenisitas ZEN dapat diketahui? Untuk standar estrogen digunakan etinil estradiol (EE₂) yang sudah diketahui estrogenisitasnya kuat.

Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk mengetahui estrogenisitas ZEN dan perkembangan kelenjar tubuler yang ada dalam lamina propia magnum dari anak puyuh yang disuntik ZEN apabila ditingkatkan dosisnya dari 20 mg/kg bb menjadi 25 mg/kg bb. Berdasarkan penelitian-penelitian yang pernah dilakukan saluran telur anak puyuh lebih sensitip terhadap substansi estrogenik (solasodin, zearalenon) daripada saluran telur anak ayam.

Mempelajari struktur histologi magnum anak puyuh ini akan melengkapi studi biokimia dan farmakologi saluran telur anak puyuh. Anonimus (1969) melaporkan bahwa sejak tahun 1952 puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) digunakan sebagai hewan percobaan di laboratorium *The Institute of Laboratory Animal Resources* (ILAR) di Amerika Serikat, untuk penelitian biomedis dan skrining steroid baru. Pertumbuhan dan perkembangan saluran telur unggas terjadi pada periode pemasakan seksual. Pada anak unggas pertumbuhan dan perkembangan tersebut dapat dirangsang dengan pemberian estrogen dari luar. Dari penelitian Istriyati dkk. (1996) didapat informasi, bahwa Zearalenon mempunyai sifat estrogenik lemah pada puyuh yakni lebih kecil dari pada potensi estrogenik etinil estradiol (estrogen sintetis yang digunakan sebagai standarnya). Zearalenon dosis 20 mg/kg bb yang disuntikkan pada anak puyuh umur 7 hari selama 5 hari berturut-turut hanya merangsang terbentuknya bagian sekretoris dari kelenjar eksokrin yang terdapat dalam lamina propia magnum (Istriyati dkk., 1998). Disebutkan juga bahwa pengaruh ZEN terhadap pertumbuhan dan perkembangan saluran telur anak puyuh baru tampak pada dosis tersebut di atas. Pertumbuhan dan perkembangan saluran telur anak puyuh

secara alami telah dilakukan oleh Pageaux *et al.*, (1986).

Anak puyuh sangat ekonomis untuk penelitian biomedis oleh karena ukuran hewan kecil, siklus reproduksi singkat, lebih sensitip terhadap substansi estrogenik dari pada anak ayam (Istriyati dan Issoegianti, 1986). Zearalenon adalah mikotoksin, yang diduga bersifat estrogenik, yang diisolasi dari beberapa kapang *Fusarium*. Pertumbuhan saluran telur anak puyuh, yang dicerminkan oleh peningkatan berat basah, perlu diketahui struktur histologisnya, karena pertumbuhan tersebut belum tentu diikuti oleh perkembangan struktur histologis.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Anak puyuh betina umur 7 hari, sehat, berat seragam (11-12g), sebanyak 50 ekor didapat dari Peternak Unggas di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Klaten. Zearalenon (ZEN, Makor Chemical Ltd., Israel) berupa kristal putih, Etinil estradiol-17a (EE₂, Sigma), berupa kristal putih, dan minyak sesame (wijen).

Bahan kimia dan perangkat lainnya yang diperlukan untuk membuat sediaan histologi, paraplast, kaca benda, kaca penutup, Kanada balsem, kotak preparat, larutan pewarna, film berwarna.

Alat

Mikrotom putar beserta perlengkapannya, oven (paraplast), *hot-plate*, kandang, mikroskop, mikroskop foto, 4 *syring* hipodermal 0,25 ml, jarum suntik sekali pakai.

Prosedur Pelaksanaan

Lima puluh ekor anak puyuh betina umur 7 hari disuntik secara subkutan dengan ZEN 25 mg/kg bb atau etinil estradiol 0,025 dan 0,05 mg/kg bb, selama 5 hari berturut-turut dengan volume suntikan 5 µl/g bb. Setiap kelompok terdiri dari 10 ekor. Pengelompokan hewan uji sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol (k) adalah kelompok anak puyuh tanpa perlakuan apapun
2. Kelompok plasebo (p) adalah kelompok anak puyuh yang disuntik minyak sesame sebesar 5 µl/g bb (5ml/kg.bb)
3. Kelompok perlakuan adalah kelompok anak puyuh yang disuntik ZEN dosis 25 mg/kgbb
4. Kelompok standar adalah kelompok anak puyuh yang disuntik EE2 sebesar 0,025 atau 0,05 mg/kg bb

Satu hari setelah suntikan terakhir hewan ditimbang, selanjutnya dibunuh. Saluran telur diambil, kemudian ditimbang berat basahanya. Bagian tengah magnum dipotong ± 1 cm untuk sediaan histologi, yang dibuat menurut metode parafin,

fiksasi dalam larutan Helly, disayat setebal 6 µm, diwarnai dengan Mallory Azan.

Cara Analisis

1. Data kualitatif yang berupa kenaikan berat basah saluran telur per 100 g bb dianalisis dengan Analisis Sidik Ragam dan perbedaan antar perlakuan akan diuji dengan DMRT pada taraf 5%.
2. Data kuantitatif yang berupa perkembangan kelenjar tubuler, ditabulasikan, selanjutnya dibandingkan dengan kontrol dan standarnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Estrogenisitas ZEN pada anak puyuh dicerminkan oleh pertumbuhan saluran telurnya dan perkembangan kelenjar tubuler di dalam lapisan mukosanya. Hasil dari penelitian yang berupa berat basah saluran telur tercantum pada Tabel 1. Perkembangan kelenjar tubuler yang diamati dengan mikroskop cahaya tercantum pada Tabel 2.

Pada sediaan histologi, yang diamati dengan mikroskop cahaya, dalam mukosa magnum akan diamati adanya edema stroma dan perkembangan kelenjar tubuler. perkembangan kelenjar tubuler dikelompokkan menjadi 4 kategori, yaitu:

1. Apabila pada lapisan epitelium mukosa magnum telah terbentuk

penebalan berupa plakoda kelenjar (P) yang mulai menjorok ke dalam stroma, keadaan ini ditetapkan sebagai perkembangan awal kelenjar.

2. Apabila pada lapisan epitelium luminal telah terbentuk plakoda kelenjar (P) dan kolom sel-sel kelenjar (K) ditetapkan sebagai perkembangan lanjut I.
3. Apabila telah terbentuk P, K dan bagian sekretoris kelenjar (BS), ditetapkan sebagai perkembangan lanjut II.
4. Apabila telah terbentuk granula sekret (GS) di dalam sel kelenjar, ditetapkan sebagai perkembangan yang sudah sempurna (fungsional).

Data pada Tabel 1. menunjukkan bahwa pertumbuhan saluran telur dari anak puyuh yang disuntik ZEN sebesar 25 mg/kg bb sangat mencolok apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol plasebo, maupun standarnya. Dari Tabel 2. dapat ditunjukkan bahwa pertumbuhan tersebut disebabkan oleh perkembangan kelenjar tubuler yang juga sangat mencolok dan bukan karena kandungan airnya yang meningkat. Hal ini dapat ditunjang dari Gambar 1C, D, dan E. Pada gambar tersebut lapisan mukosa tampak dipenuhi oleh kelenjar tubuler dan pada bagian sekretorisnya sudah dijumpai banyak granula sekretoris. Granula ini dengan pewarnaan Mallory Azan terpulas

3 macam, yakni biru, oranye, dan merah. Hal ini menunjukkan bahwa granula tersebut tersusun dari protein yang berbeda, yang menyusun putih telur dari telur puyuh.

Pada kelompok kontrol granula seperti itu belum dijumpai, sehingga pada kelompok ini perkembangan kelenjar hanya sampai pada tingkat perkembangan lanjut II. Dari uraian tersebut menunjukkan bahwa kenaikan dosis ZEN menjadi 25 mg/kg bb telah merangsang perkembangan kelenjar tubuler mencapai fungsional.

Pada penelitian terdahulu, pada kelompok kontrol dan plasebo, saluran telur hewan kontrol belum tumbuh. Berdasarkan pengamatan pada saat pembedahan, ovariumnya juga masih belum tumbuh. Pada penelitian yang sekarang ini, pada hewan kontrol saluran telur telah tumbuh dan ovarium sudah tampak nyata. Dengan kondisi yang demikian, pada penelitian ini hasilnya lebih mencolok. sehingga, tujuan dan hipotesis dari penelitian ini dapat tercapai dan terjawab. Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan menyelidiki kandungan estrogen dalam darah dan diikuti dengan melihat gambaran histologi ovariumnya.

Hasil penelitian yang dikerjakan ini menunjukkan bahwa kenaikan dosis ZEN dari 20 menjadi 25 mg/kg bb estrogensitasnya meningkat, sehingga mekanisme kerja ZEN sudah dapat

diduga. Terbentuknya granula sekretoris ini adalah merupakan bentuk sitodiferensiasi sel-sel epitel pembatas lumen saluran telur anak puyuh yang diinduksi oleh ZEN. Hal serupa diutarakan oleh Salomaa *et al.* (1992) yang menyatakan bahwa sitodiferensiasi sel-sel oviduk diinduksi oleh pemberian estradiol-17 β pada anak ayam betina yang baru menetas. Meskipun demikian masih perlu

pengembangan lagi, yakni apakah yang merangsang pertumbuhan tersebut adalah ZEN utuh atau metabolitnya. Kalau mekanisme kerja ZEN adalah seperti yang ditunjukkan oleh EE₂ perlu dibuktikan dengan teknik hibridisasi dari mRNA ovalbumennya, seperti yang pernah diteliti oleh Lepadhyay *et al.*, (1996), perlu juga diteliti apakah profil protein yang dihasilkan karena

Tabel 1. Berat basah saluran telur (BBST) dari anak puyuh yang disuntik Zearalenon atau Etinil estradiol selama 5 hari berturut-turut

No.	Perlakuan	BBST pada akhir perlakuan (x)
1	Kontrol (k)	0,4626
2	Plasebo (p)	0,4495
3	ZEN 25 mg/kg bb (C)	0,6900
4	EE2 0,025 mg/kg bb (D)	0,3219
5	EE2 0,05 mg/kg bb (E)	0,3258

Tabel 2. Perkembangan kelenjar tubuler dalam lapisan mukosa magnum saluran telur dari anak puyuh yang disuntik dengan ZEN atau EE₂

Kelompok/Kategori	K	P	ZEN 25 mg/kg bb	EE2 0,025 mg/kg bb	EE2 0,05 mg/kg bb
Perkembangan awal (p)	-	-	-	-	-
Perkembangan lanjut I (p; k)	-	-	-	-	-
Perkembangan lanjut II (p; k; bs)	+	+	-	-	-
Perkembangan fungsional (gs)	-	-	++	++	++

Keterangan:

p = plakoda

k = kolom

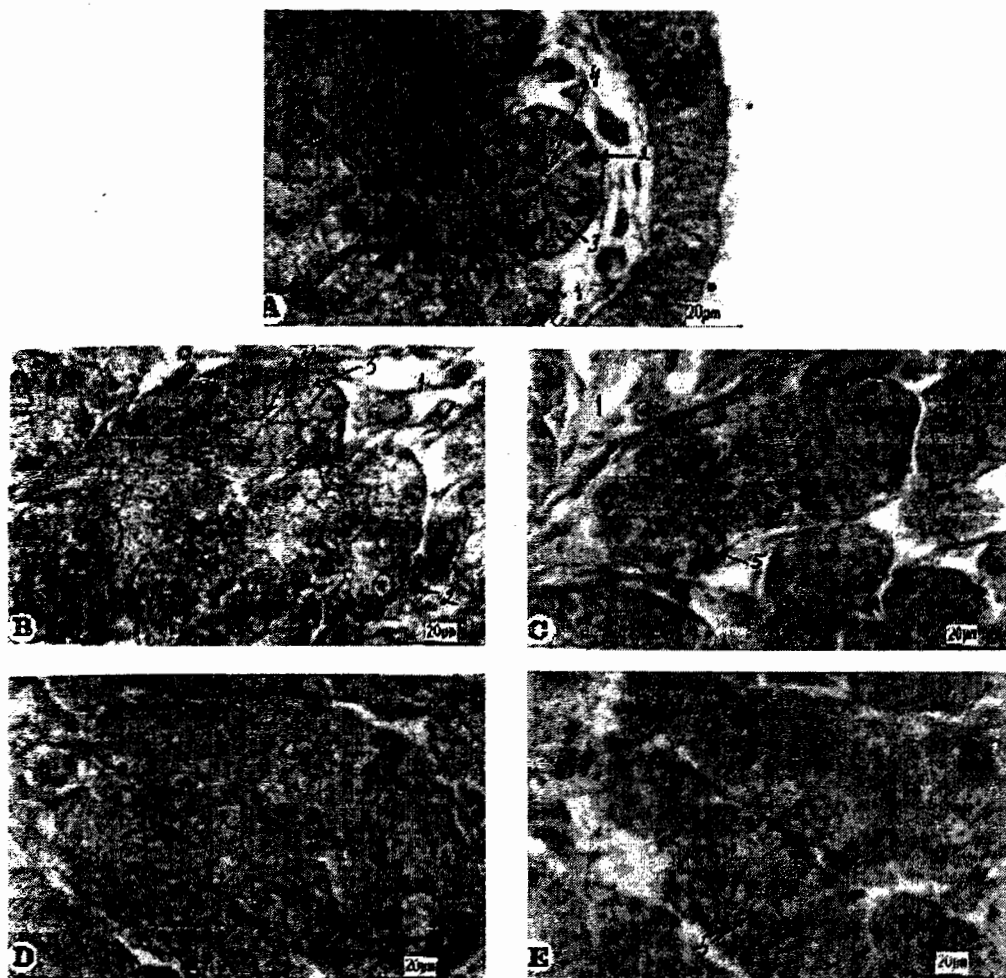
- = tidak ada

+

++ = kelenjar sekretoris memenuhi mukosa magnum

bs = bagian sekretoris

gs = granula sekretoris



Gambar 1. Sayatan melintang mukosa magnum anak puyuh

Pewarnaan : Mallory Azan

Tebal sayatan : 6 μ m

Keterangan :

- | | |
|-----------------------|---|
| A. Kontrol (k) | 1 = jaringan ikat longgar |
| B. Plasebo (p) | 2 = inti sel kelenjar |
| C. ZEN 25 mg/kg bb | 3 = sitoplasma |
| D. EE2 0,025 mg/kg bb | 4 = lumen kelenjar |
| E. EE2 0,05 mg/kg bb | 5 = granula sekretoris dalam sel kelenjar |

rangsangan oleh ZEN atau EE_2 sama atau berbeda. Hal ini diutarakan karena menurut Ueno *et al.* (1983), ZEN dalam tubuh hewan dapat berupa α -zearalanol (α -ZAL), α -zearalenol (α -ZEL), zearalenon utuh (ZEN), β -zearalanol (β -ZAL), atau β -zearalenol (β -ZEL), yang tentunya potensi estrogenisitasnya juga beragam dan belum diketahui bentuk yang manakah yang terdapat dalam tubuh puyuh.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Setelah melakukan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Zearalenon pada dosis yang digunakan estrogenisitasnya meningkat, tetapi tidak dapat ditentukan potensinya oleh karena pertumbuhan saluran telur yang dirangsang oleh ZEN tersebut melebihi dari pertumbuhan saluran telur yang dirangsang oleh etinil estradiol.
2. Zearalenon merangsang morfogenesis kelenjar tubuler dalam lapisan mukosa magnum mencapai tingkat perkembangan yang sudah sempurna (fungsional).

Saran

Mengingat bahwa epitel luminal saluran telur anak puyuh dapat berkembang menjadi sel piala, yang juga

menghasilkan salah satu protein penyusun putih telur, perlu juga dilakukan penelitian struktur ultra dari sel piala tersebut. Dengan demikian mekanisme estrogenik ZEN pada dosis tersebut menjadi lebih lengkap.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pimpinan Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada beserta jajarannya, yang telah memberikan dana untuk penelitian ini.

Bambang Retnoaji, S.Si., M.Si. atas bantuannya dalam mempersiapkan naskah ini.

PUSTAKA ACUAN

- Anonimus, 1969. *Coturnix* (*Coturnix coturnix japonica*). *Standard and guidelines for breeding, care and management of laboratory animals*. Nat. Acad. of Sci. Washington, D.C., p. 1-19.
- Istriyati, L.A. Sutasurya dan S. Sudarwati. 1996. *Pertumbuhan dan perkembangan saluran telur anak puyuh Jepang* (*Coturnix coturnix japonica*) yang diperlakukan dengan zearalenon. Disertasi. ITB.
- Istriyati, dan R. Issoegianti. 1986. Studi pertumbuhan saluran telur anak ayam yang diberi solasodin.

Laporan Penelitian No. 516/
PIT/DPPM/436/1985.

Istriyati, L.A. Sutasurya dan S.
Sudarwati. 1998. Struktur
histologi saluran telur anak puyuh
(*Coturnix coturnix japonica*)
setelah diperlakukan dengan
zearalenon. *Biologi* 2(5):
209-224.

Pageux, J. F., C. Laugier, D. Pal, M.A.
D'Almeida, D. Sandoz and
H. Pacheco. 1986. Magnum
morphogenesis during the natu-
ral development of the quail ovi-
duct: Analysis of egg white pro-
tein and progesteron receptor
concentration. *Biol. Reprod.* 35:
657-666.

Salomaa, S., T. Joensuu, T. Sannisto, T.
Ylikoni, M. Kulomaa and P.
Tuohimaa. 1992. *In situ* hybrid-
ization of ovalbumin mRNA in
the chick oviduct reveals target
cell specificity for estrogen and
progesteron. *J. Steroid
Biochem. Hol. Biol. Mar.*
41(3-8): 641-645.

Ueno, Y., F. Fashiro, and T. Kobayashi.
1983. Species differences in
zearalenone-reduktase activity.
Food Cosmet. Toxicol. (21) 2:
167-173.

Lepadhyay, R., S. Gupta, and M.S.
Kanungo. 1996. Age related
changed in the *ovalbumin* gene
of the Japanese quail. *Biochem.
Blophys. Res. Commun.* 13; 226
(2): 356-361.